

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-221901

(43) 公開日 平成5年(1993)8月31日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 C 35/21		8827-4H		
A 6 1 K 31/045	ADN	8413-4C		

審査請求 未請求 請求項の数2(全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平4-29770

(22) 出願日 平成4年(1992)2月17日

(71) 出願人 390028509

シオノケミカル株式会社

東京都中央区京橋3丁目6番21号

(72) 発明者 丹羽 宏之

東京都品川区小山一丁目7番8号

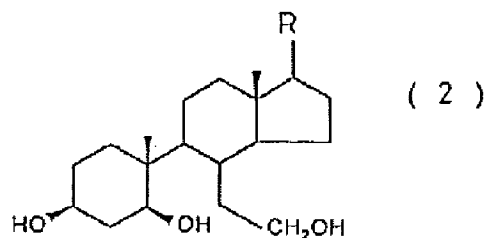
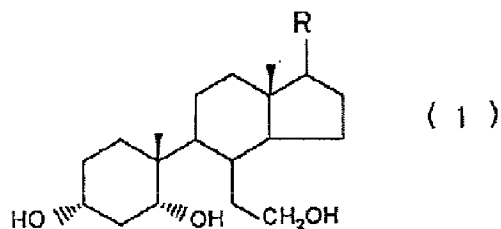
(74) 代理人 弁理士 西澤 利夫

(54) 【発明の名称】 セコステロール誘導体

(57) 【要約】 (修正有)

【目的】 血清脂質低下剤等として有用な、特有な立体構造を有する5, 6-セコステロール誘導体を提供する。

【構成】 次式(1), (2)で表わされる3 $\alpha$ -OH, 5 $\alpha$ -OHもしくは3 $\beta$ -OH, 5 $\beta$ -OHの5, 6-セコステロール誘導体。



(Rは炭化水素基を示す。)

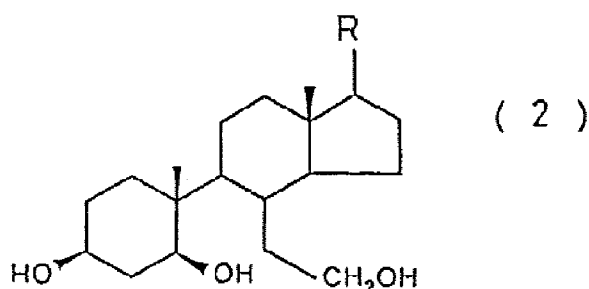
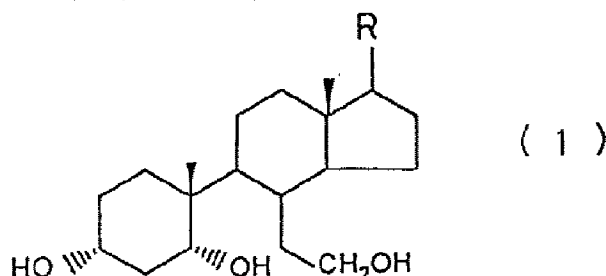
【特許請求の範囲】

\* 6-セコステロール誘導体。

【請求項1】 次式(1)(2)で表わされる $3\alpha\text{-O}$

【化1】

H,  $5\alpha\text{-OH}$ もしくは $3\beta\text{-OH}$ ,  $5\beta\text{-OH}$ の5, \*



(Rは炭化水素基を示す)

【請求項2】 請求項1のステロール誘導体またはその薬理的に許容しうる塩を含有することを特徴とする血清脂質低下剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は、セコステロール誘導体に関するものである。さらに詳しくは、この発明は、血清脂質低下剤等として有用な、特有な立体構造を有する5, 6-セコステロール誘導体に関するものである。

【0002】

【従来の技術とその課題】 従来より、動脈硬化を誘発する高脂血症の治療薬として種々の血清脂質低下剤が開発され、実用化されてきている。しかしながら、従来の血清脂質低下剤は脂質代謝の改善作用が十分でなく、またその副作用も無視しえないものであった。たとえば、一般に広く使用されている血清脂質低下剤としてクロフィプレートが知られているが、このクロフィプレートは血清コレステロールをある程度低下させることはできるものの中性脂肪を低下させることができず、その副作用も問題となる等の欠点があり、結局は血清脂質低下剤として実用的に満足できるものではなかった。実際、その使用にあたっては、血清脂質の変化に注意しながら長期間服用することを余儀なくされていた。

【0003】 このため、これらの欠点を改善することの

できる新しい薬剤の実現が強く望まれていた。このような状況において、本出願人は、先に、新しい血清脂質低下剤として有用な、5, 6-セコステロール誘導体を開発し、これを提案した(特願昭63-118912号、特開平1-290624号)。この化合物は、血清コレステロールの低下活性とともに中性脂肪の低下活性の良好なもので、注目されるべきものであった。

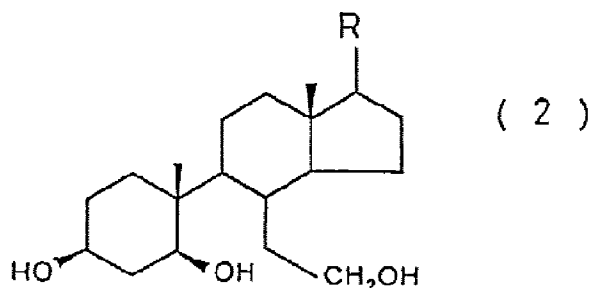
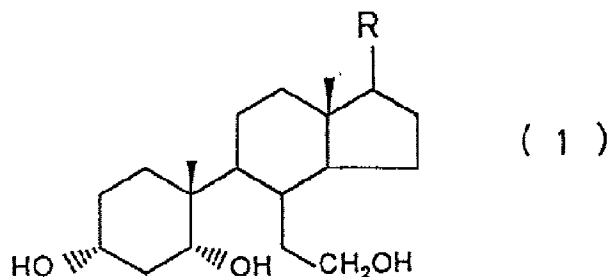
【0004】 この新しい5, 6-セコステロール誘導体についてさらに検討を進めてきたところ、すでに提案されているものとはその立体構造が別異であって、しかもその血清脂質低下活性等の薬理作用についても注目される新規な物質が合成され、実際に使用され得る状況となった。そこでこの発明は、以上の通りの従来の血清脂質低下剤の欠点を解消し、かつ、5, 6-セコステロール誘導体に関する技術をさらに発展させるためになされたものであり、特異的な立体構造を有する新規活性化化合物を提供することを目的としている。

【0005】

【課題を解決するための手段】 この発明は、上記の課題を解決するものとして、次式(1)(2)で表わされる $3\alpha\text{-OH}$ ,  $5\alpha\text{-OH}$ もしくは $3\beta\text{-OH}$ ,  $5\beta\text{-OH}$ の5, 6-セコステロール誘導体を提供する。

【0006】

【化2】



【0007】(Rは炭化水素基を示す)

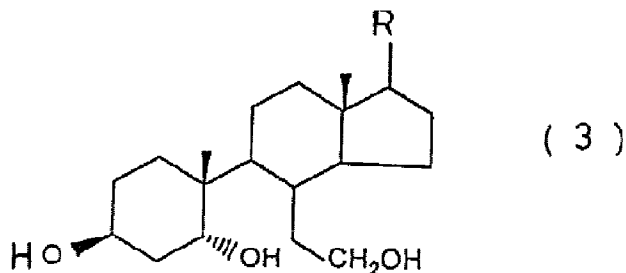
この化合物は前記の先行特許出願(特開平1-29064号)に開示された5, 6-セコステロール化合物がいずれも3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -OH体であるとの知見を踏まえ、これらとはその立体構造が全く別異のものとして提案されたものである。なお、式(1)(2)中のRは炭化水素基であるが、たとえばC<sub>3</sub>~C<sub>10</sub>程度のアルキル基もしくはアルケニル基等とすることができる。

【0008】この発明の化合物は、前記先行特許出願が開示している方法では製造することができないものであ\*

20\*って新しい製造方法を採用することが必要である。すなわち、前記の式(1)の3 $\alpha$ -OH, 5 $\beta$ -OHの5, 6-セコステロール誘導体については、先行特許出願に示されてるコレステロールのオゾン酸化法によって合成した式次(3)の3 $\beta$ -OH, 5 $\alpha$ -OHの化合物の6位のOH基を保護し、次いでC-3位が反転したエステル体に転化し、加水分解および脱保護することにより製造することができる。

【0009】

【化3】



【0010】また、3 $\beta$ -OH, 5 $\beta$ -OHの5, 6-セコステロール誘導体については、たとえばコレスタノール-6-オンをアセチル化し、Baeyer-Villiger 酸化して得られる2種類の位置異性ラクトン体のうちの5-ヒドロキシ-5, 6-セコ-5 $\alpha$ -コレスタン-6-オイック ラクTONを単離し、これを還元的に開環することにより製造することができる。

【0011】これらの方法によってはじめてこの発明の化合物は実現されたものである。たとえば以上のようにして製造することのできるこの発明の式(1)(2)で表わされる5, 6-セコステロール化合物は血清コレステロールの低下作用及び中性脂肪の低下作用の双方に優れており、また肝障害に対する作用も従来の血清脂質低

下剤よりも低いので、血清脂質低下剤として有用である。その場合、血清脂質低下剤として、5, 6-セコステロール誘導体の薬学的に許容しうる塩を用いてもよい。

【0012】この血清脂質低下剤は経口投与、非経口投与のいずれにも適するように調製することができる。経口投与により使用する場合には、この発明のステロール化合物を定法により担体、賦形剤、希釈剤等を用いて、粉末、顆粒、錠剤、カプセル等に形成する。また、非経口投与により使用する場合には、必要に応じてPH調整剤、保存剤、安定剤等を添加して形成することができる。

【0013】以下、この発明を実施例に基づいてさらに

具体的に説明する。

【0014】

【実施例】

#### 実施例1

(a) 5, 6-セココレスタン-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6-トリオール

コレステロールの20gのクロロホルム500ml溶液にエタノール10mlを加え、内温-35℃でオゾンガスを4時間吹き込んだ。薄層クロマトにより原料の消失を確認後、アルゴンガスを10分間吹き込み過剰のオゾンガスを追い出した。次いで、同温度でメタノール100ml\*

IR $\nu_{\max}$  (KB $r$ ) cm $^{-1}$ : 3300, 2950, 1470, 1380, 1050, 1010.

$^1\text{H-NMR}$  (CDC $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.65 (3H, s, 18-H $_3$ ), 0.83 (3H, s, 19-H $_3$ ), 0.90,

0.94 (9H, each s, 21, 26, 27-H $_3$ ), 3.77 (3H, m, 3 $\alpha$ -H, 6-H $_2$ ), 4.18

(1H, brs, 5 $\beta$ -H).

【0017】 (b) 5, 6-セココレスタン-6-トリファニルメトキシ-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -ジオール

前記化合物 (TY-04) の14.1gのピリジン75ml溶液に、氷冷下塩化トリチル9.8gを添加し同温度で1時間攪拌後、室温で一晩攪拌した。次いで、塩化トリチル1.0gを追加し更に室温で5時間攪拌した。反応液体を減圧下に溶媒留去し、得られた残渣をクロロホルムに溶解し、希塩酸、飽和食塩水の順に洗浄した。無水硫酸マ※

IR $\nu_{\max}$  (KB $r$ ) cm $^{-1}$ : 3400, 2950, 1450, 1370, 1050, 700.

$^1\text{H-NMR}$  (CDC $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.60 (3H, s, 18-H $_3$ ), 0.83 (3H, s, 19-H $_3$ ),

0.89 (9H, s, 21, 26, 27-H $_3$ ), 3.25 (2H, m, 6-H $_2$ ) 3.69 (1H, brs, 5 $\beta$ -H),

3.90 (1H, m, 3 $\alpha$ -H), 7.40 (15H, m, trityl-H).

【0019】 (c) 3 $\alpha$ -ホルミルオキシ-5, 6-セココレスタン-6-トリフェニルメトキシ-5 $\alpha$ -オール

前記保護体の5.0g及びトリフェニルホスフィン2.4gのテトラヒドロフラン40ml溶液に、ギ酸0.34mlのテトラヒドロフラン10ml溶液を加え、次いでアゾジカルボン酸ジエチル1.42mlのテトラヒドロフラン10ml★

IR $\nu_{\max}$  (KB $r$ ) cm $^{-1}$ : 3600, 3400, 2950, 1720, 1450, 1160, 1060,

1020, 700.  $^1\text{H-NMR}$  (CDC $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.57 (3H, s, 18-H $_3$ ), 0.83, 0.89

(12H, each s, 19, 21, 26, 27-H $_3$ ), 3.28 (2H, m, 6-H $_2$ ), 3.72

(1H, brs, 5 $\beta$ -H), 5.15 (1H, m, 3 $\alpha$ -H), 7.35 (15H, m, trityl-H).

8.04 (1H, s,  $\text{HCOO}$ ).

【0021】 (d) 5, 6-セココレスタン-6-トリファニルメトキシ-3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -ジオール

水酸化ナトリウム500mgの95%エタノール20ml溶液に、氷冷下前記工程 (c) の生成化合物3.8gのジエチルエーテル15mlと95%エタノール15ml溶液を滴加し、室温で10分間攪拌した。反応液に水を加えジエ

\*を加え更にNaBH $_4$  5gを添加し、続いて室温で一晩攪拌した。反応後にアセトン30mlを加え過剰のNaBH $_4$ を分解し、減圧下濃縮して得られる残渣をシリカゲルカラムクロマト (クロロホルム: メタノール=20:1) により精製した後、メタノールから再結晶して無色針状晶として次の物性値の表記化合物 (TY-04) を14.9g (収率68.2%) 得た。

【0015】 この化合物は前記特許出願に開示されているものである。

【0016】

【数1】

※グネシウムで乾燥し、減圧下に溶媒留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマト (n-ヘキサン: 酢酸エチル=4:1-3:1) により分離精製し、次の物性値を有する無水アモルファスとして、対応する保護体を21.1g (収率95.6%) 得た。

【0018】

【数2】

30★溶液を滴加し、室温で30分間攪拌した。反応液を減圧下に濃縮して得られる残渣をシリカゲルカラムクロマト (n-ヘキサン: 酢酸エチル=4:1) により精製し、無色アモルファスとして次の物性値の化合物を3.8g (収率72.9%) 得た。

【0020】

【数3】

チルエーテルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下に溶媒留去した。無色アモルファスとして次の物性値の粗製C $_3$ -エピマーを3.7g得た。

【0022】

【数4】

7

8

IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 3400, 2950, 1440, 1060, 1020, 700. $^1\text{H-NMR}$  (CDC  $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.59 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.84, 0.90(12H, each s, 19, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>), 3.22 (2H, m, 6-H<sub>2</sub>), 3.82(2H, brs, 3  $\beta$ -H, 5  $\beta$ -H), 7.37 (15H, m, trityl-H),【0023】 (e) 5, 6-セココレスタン-3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ , 6-トリオール

前記の粗製C<sub>3</sub> エピマー1.7 gのメタノール20mlとクロロホルム10ml溶液に、氷冷下p-トルエンスルホン酸1水和物200mgを加え室温で30分間攪拌した。反応後にクロロホルムを加え飽和食塩水、希炭酸水素ナトリウム溶液、飽和食塩水の順に洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下に溶媒留去した。得られた残渣\*

\*をシリカゲルカラムクロマト(クロロホルム:メタノール=20:1-10:1)により精製し、更にメタノールにより再結晶し、無色針状晶として次の物性値のこの発明の化合物(1)を710mg(収率、3 $\alpha$ -ホルミルオキシ化合物より2stepで42.5%)得た。

【0024】

【数5】

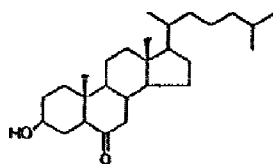
IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 3450, 2950, 1460, 1380, 1020, $^1\text{H-NMR}$  (CDC  $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.65 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.83 (3H, s, 19-H<sub>3</sub>),0.90 (9H, s, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>), 3.73 (2H, m, 6-H<sub>2</sub>), 4.01, 4.09(2H, each brs, 3  $\beta$ -H, 5  $\beta$ -H)

【0025】 実施例2

(a) 3 $\beta$ -アセトキシコレスタン-6-オン  
次式(4)

【0026】

【化4】



(4)

※ 【数6】

IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 1730, 1470, 1380, 1240, 1040. $^1\text{H-NMR}$  (CDC  $\ell_3$ )  $\delta$ : 0.66 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.77 (3H, s, 19-H<sub>3</sub>), 0.90,0.94 (9H, each s, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>), 2.02 (3H, s, CH<sub>3</sub>OCO),4.67 (1H, m, 3H $\alpha$ -H).

【0029】 (b) Baeyer-Villiger 酸化反応

前記工程(a)の粗製化合物3.67gのクロロホルム90ml溶液に、m-クロロ過安息香酸3.92gのクロロホルム40ml溶液を滴加し室温で24時間攪拌した。次いで、m-クロロ過安息香酸3.92gのクロロホルム40ml溶液を追加し室温で更に41時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣にジエチルエーテルを加え、10%炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水の順に洗浄し、無水

※ 【0027】 のコレスタノール-6-オンの3.44gのピリジン50ml溶液に、氷冷下無水酢酸15mlを加え室温で2時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣にジエチルエーテルを加え飽和食塩水、希塩酸、飽和食塩水、希炭酸水素ナトリウム溶液、飽和食塩水の順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下に溶媒留去して、無色結晶として次の物性値の粗製化合物を3.68g得た。

【0028】

【数6】

硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下溶媒留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマト(n-ヘキサン:酢酸エチル=5:1-3:1)により分離精製し、無色結晶として表1の化合物(a)を1.10g(収率、コレスタノール-6-オンより2stepで20.7%)、化合物(b)を813mg(収率、コレスタノール-6-オンより2stepで28.0%)得た。

【0030】

【表1】

3β-Acetoxy-5-hydroxy-5.6-seco-5α-cholestane-6-oic lactone( )IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 1730, 1460, 1360, 1240, 1030. $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.69(3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.83(3H, s, 19-H<sub>3</sub>), 0.90,0.93(9H, each s, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>), 2.05(3H, s, CH<sub>3</sub>OCO), 2.39(2H, m, 7-H<sub>2</sub>),

4.26(1H, m, 5α-H), 4.64(1H, m, 3α-H)

3β-Acetoxy-7-hydroxy-6.7-seco-5α-cholestane-6-oic lactone( )IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 1730, 1700, 1460, 1360, 1250, 1200, 1040. $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.69(3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.83(3H, s, 19-H<sub>3</sub>), 0.90,0.93(9H, each s, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>), 2.03(3H, s, CH<sub>3</sub>OCO), 2.90(1H, m, 5α-H),4.08(2H, m, 7-H<sub>2</sub>), 4.59(1H, m, 3α-H)

【0031】 (c) 5, 6-セココレスタン-3β, 5β, 6-トリオール

LiAlH<sub>4</sub> 700mgの無水ジエチルエーテル50ml懸濁液に、氷冷下前記化合物(a) 760mgの無水ジエチルエーテル50ml溶液を滴加し室温で14時間攪拌した。反応液に、氷冷下酢酸エチルを加え過剰のLiAlH<sub>4</sub>を分解し、次いで、希硫酸を加え数分間攪拌した。

これに水を加え有機層を分取し、水層を更にジエチルエ\*

\*エーテルで抽出した。有機層を併せて水洗し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下に溶媒留去した。得られる残渣をシリカゲルカラムクロマト(クロロホルム:メタノール=15:1)により分離精製し、無色アモルファスとして次の物性値を有するこの発明の化合物(2)を500mg(収率71.7%)得た。

【0032】

【数7】

IR  $\nu_{\max}$  (KB r)  $\text{cm}^{-1}$ : 3350, 2950, 1460, 1380, 1050. $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.65(3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.83(3H, s, 19-H<sub>3</sub>),0.90, 1.09(9H, each s, 21, 26, 27-H<sub>3</sub>),3.76(4H, m, 3Hα-H, 5α-H, 6-H<sub>2</sub>).

## 【0033】実施例3

以上の実施例1~2によって得た化合物について、高コレステロール食(HCD)負荷ラットにおける脂質低下作用を評価した。

## (1) 化合物について

上記化合物の投与容量が30mg/5ml/kg(b. w.)となるように、0.5%メチルセルロース溶液に懸濁して調製した。

【0034】なお、対照群およびHCD対照群には、0.5%メチルセルロース溶液5ml/kg(b. w.)を経口投与した。

## (2) 使用動物

5週齢のWistar系雄性ラット(日本クレア)を購入(1989. 4. 11)後、TPX樹脂製ケージに5匹ずつ収容し、室温22±1℃、湿度55±10%、照明時間8:00~の20:00の飼育室で固型飼料(CE-2, 日本クレア)および水道水を自由に摂取させ、6日間予備飼育した。

【0035】予備飼育終了後、動物を体重により層化し、各群の平均体重が均一になるように1群5匹ずつ13群に分けた。群構成は、対照群、HCD対照群、TY-04投与群、化合物(1)(2)投与群の合計5群とした。なお、使用動物の群分け時の体重は、131~1

45kgであった。

## (3) 試験方法

CE-2飼料(普通固型飼料)に1.0%コレステロール、0.5%コール酸および12.0%コナツツオイルを添加した固型の高コレステロール飼料(日本クレア)を、対照群を除くすべての投与群に10日間自由に摂取させるとともに、被検化合物30mg/kgまたは0.5% methyl cellulose 溶液を1日1回10日間連続経口投与した、最終投与18時間前より、動物を絶食状態にし、最終投与4時間後にエーテル麻酔下で下大静脈より採血し、放血致死させた。その後、肝、胸腺、両精巣および両副腎を摘出し湿重量を測定した。採取した静脈血は、直ちに血液生化学検査を行った。検査項目は、血清総コレステロール(total cholesterol; TC)、中性脂肪(triglyceride; TG)、HDL-コレステロール(HDL-C)および血清GOT・GPTの5項目とし、(VLDL+LDL)・コレステロール値は、TCからHDL-Cを差し引いて求め、動脈硬化指数(athro-genic index; AL)は、TC-HDL-C/HDL-C比より算出した。

【0036】なお、試験期間中毎日、体重および摂餌量を測定した。

## (4) 統計学的処理

F検定を $P<0.05$ で行い、等分散の場合はStudentのt検定を用い、不等分散の場合はCochran-Cox検定を用いて有意差検定を行った。

#### (5) 試験結果

表2に示したように、TCに関しては、対照群の65.6mg/dlに対し、HCD対照群は96.8mg/dlと約1.4倍の増加傾向を示した。TY-04投与群は、14%のTC増加抑制傾向を示し、またこの発明の化合物(1)投与群では、17%の増加抑制傾向を示した。

【0037】この発明の化合物(1)は脂質低下に適用するに有用である。(VLDL+LDL)-Cに関しては、対照群の28.2mg/dlに対し、HCD対照群では73.2mg/dlの有意な増加を示した。TY-04投与群では、20%の増加抑制傾向を示し、この発明の化合物(1)投与群では、26%の増加抑制傾向を示した。

【0038】AIに関しては、対照群の0.757に対し、HCD対照群では3.138と有意な増加を示した。TY-04およびこの発明の化合物(1)投与群ではそれぞれふう%、36%の増加抑制傾向を示した。TGに関しては、対照群の30.4mg/dlに対し、HCD対照群で同値を示した。TY-04投与群ではTGを9%抑制したが、この発明の化合物(2)では18%の有意な低下を示した。

【0039】GOTおよびGPTに関しては、TY-04およびこの発明の化合物(1)で、HCD投与群に比べそれぞれ16、22%のGOTの有意な低下を示し、GPTではいずれの投与群においても有意な作用を示さなかった。なお、GOTの有意な減少が認められたものの、いずれも生理的正常変動内の変化であり、薬物性肝障害に対し関与している可能性はないと思われる。

#### 【0040】

【表2】

評価	Total-cho (mg/dl)	HDL-cho (mg/dl)	VLDL+LDL-cho (mg/dl)	Atherogenic index	Triglycerides (mg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)
コントロール	65.6 ± 1.5 (68)	37.4 ± 1.2 (158)	28.2 ± 0.9 (39)	0.757 ± 0.037 (24)	30.4 ± 3.1 (100)	155.0 ± 14.2 (101)	29.6 ± 1.4 (105)
HCD-コントロール	96.8 ± 11.4 (100)	23.6 ± 1.1 (100)	73.2 ± 11.5 (100)	3.138 ± 0.524 (100)	30.4 ± 1.5 (100)	152.8 ± 4.8 (100)	28.0 ± 1.4 (100)
TY-04	83.0 ± 4.1 (86)	24.6 ± 1.6 (104)	58.4 ± 2.9 (80)	2.397 ± 0.135 (76)	27.6 ± 3.2 (91)	128.2 ± 2.4 (100)	30.0 ± 1.0 (107)
	80.8 ± 5.6 (83)	26.8 ± 1.1 (114)	54.0 ± 5.0 (74)	2.015 ± 0.162 (64)	35.6 ± 5.0 (117)	104.4 ± 1.6 (68)	28.0 ± 2.2 (100)
	93.0 ± 9.8 (96)	23.4 ± 1.0 (99)	69.6 ± 10.4 (95)	3.040 ± 0.511 (97)	24.8 ± 1.7 (82)	131.8 ± 13.7 (86)	25.8 ± 1.2 (92)